动　物　学　研　究　2010，Aug. 31(4): 395−400　　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research　　DOI：10.3724/SP.J.1141.2010.04395

哲罗鱼微卫星亲子鉴定的应用

张春雷[1,2]，佟广香[1]，匡友谊[1]，张　超[1,3]，尹家胜[1,*]

(1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 哈尔滨　150070；2. 云南农业大学 动物科学技术学院, 昆明　650201；
3. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海　201306)

摘要：该文通过 7 对微卫星标记，对哲罗鱼的微卫星亲子鉴定准确率、亲子鉴定能力与候选亲本群体大小的关系及应用作了研究。通过计算机软件分析，亲子鉴定能力随候选亲本群体的增大而减小。在 81 个可能的父母对条件下，单独养殖家系鉴定准确率为 80%，混合养殖家系有 78.9%的后裔可以鉴定其父母；而在 9 个可能的父母对条件下，单独养殖家系鉴定准确率为 93.3%，混合养殖家系鉴定率为 92.2%。该研究表明微卫星分子标记可以用于哲罗鱼的家系鉴定。

关键词：哲罗鱼；亲子鉴定；微卫星
中图分类号：Q959.499; Q343.1; Q311.8; Q16　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：0254-5853-(2010)04-0395-06

Applicability of Microsatellite DNA Markers to the Parental Identification of *Hucho taimen* (Pallas)

ZHANG Chun-Lei[1,2], TONG Guang-Xiang[1], KUANG You-Yi[1],
ZHANG Chao[1,3], YIN Jia-Sheng[1,*]

(1. *Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Harbin* 150070, *China*; 2. *College of Animal Science and Technology, Yunnan Agriculture University, Kunming* 650201, *China*; 3. *College of Fishiness and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai* 201306, *China*)

Abstract: Using seven pairs of microsatellite markers we studied the relationship between the size of the the candidate groups and the microsatellite paternity testing accuracy by separate breed or the microsatellite paternity appraisal ability by mixed breed. By computer software analysis, the appraisal ability decreased with the candidate groups increase. For the 81 putative parents the microsatellite paternity testing accuracy was 80% and the microsatellite paternity appraisal ability was 78.9%; for the 9 putative parents, the testing accuracy was 93.3% and the appraisal ability was 92.2%. The results indicated that the microsatellite DNA markers can be used for the parentage determination of *Hucho taimen* Pallas.

Key words: *Hucho taimen* (Pallas); Parental identification; Microsatellite

亲子鉴定(parentage identification)也称亲权鉴定，是法医学上的一个术语，是指通过对子代个体遗传特征的分析确定可能的父母，或通过父母的遗传特征来寻找可能的子女(Gao et al, 2007)。常规的亲子鉴定一般基于已确定的母子关系来验证父子关系是否成立，父权指数的计算见 Evett & Weir (1998)，而双亲皆疑时父权指数的计算则参考 Fung et al (1996)的研究。

哲罗鱼为我国珍稀冷水性鱼类，由于人为干扰及生态恶化，其种群数量急剧减少，已处于濒临灭绝状态(Wang et al, 1998)， 近年来群体的保持主要靠人工驯化养殖及放流，无形中增加了近交几率，进而影响群体的遗传多态性。为了控制近交以避免降低个体生活力，保持哲罗鱼群体的遗传多态性，

收稿日期：2010-01-05；接受日期：2010-06-07
基金项目：国家科技部支撑计划资助项目(2006BAB08-01)；国家农业部水产生物技术重点开放实验室基金资助项目(2006NYBZS-10)；黑龙江水产研究所基本科研专项资金资助项目(2008HSYZX-ST-08)
*通讯作者(Corresponding author)，尹家胜 (1960－)，男，研究员。E-mail: xwsc20@tom.com
第一作者简介：张春雷 (1983－)，男，黑龙江牡丹江人，硕士研究生。E-mail: zclzcl008@qq.com

急需查清育种亲本的家系信息，以确保育种亲本无亲缘相关。

在具体实施中，分池饲养可保证精确的家系信息，但空间占用大、管理强度大，而且更重要的是不同的养殖环境对性状的影响会导致性状遗传参数的估计偏差，为此引入了亲子鉴定技术。水产动物亲子关系的鉴定主要依靠合适的遗传标记或辅助方法。早期使用的遗传标记主要有同功酶电泳、RFLP 和 RAPD，但同功酶电泳及 RFLP 多态信息含量普遍较低，而 RAPD 的重复性、稳定性和可比性又较差。因此，变异度高的微卫星 DNA(microsatellite DNA)就成为最有效的遗传标记(Weber & May, 1989; Bowcok et al, 1994)。微卫星标记在遗传多态性调查和系谱鉴定中显示了强大的确证作用(Stephen et al, 1999)，微卫星标记可用于确证父母、分析家系、确定种属关系(Zhang et al, 2003a,b; Xia et al, 2005; Sun et al, 2007)。Dena et al (2004)和 Dong et al (2008)等的研究更证实微卫星标记在没有外部物理标记及混合养殖情况下可区分出混养群体所属家系。然而，目前尚未见微卫星分子标记用于哲罗鱼家系鉴定的报道。本研究基于微卫星标记在家系鉴定中的应用，利用计算机软件模拟分析，通过 7 对有效的微卫星引物，摸索微卫星亲子鉴定在哲罗鱼中的应用条件及价值，为哲罗鱼的选育、保护提供分子生物学理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

材料取自于黑龙江水产研究所渤海冷水性鱼类试验站。2007 年 3 月通过人工授精技术获得 3 个哲罗鱼全同胞家系，记为 22#、28#、29#，每个家系取 200 尾单独饲养，其余个体混合养殖。2008 年 4 月于每个单独饲养家系随即抽取 30 尾构成材料 A，于混合饲养群体随即抽取 90 尾构成材料 B，由家系的 3 对真实亲本及与家系无关的 6 对雌雄个体组成材料 C。样品均剪取鳍条，于 75%酒精中保存。DNA 的提取采用标准的酚-氯仿抽提法。

1.2 PCR 扩增及电泳检测

家系亲缘分析采用的 7 对有效微卫星标记是由网上收集的鲑科鱼类微卫星标记中筛选所得，由上海生工合成。引物信息见表 1。

PCR 反应体系为 15 μL：*Taq* DNA 聚合酶 0.12 μL(5 U/μL)，10×*Taq* Buffer 1.5 μL，$MgCl_2$ 0.9 μL(2 mmol/μL)，dNTP 1.2 μL(1.5 mmol/μL)，上下游引物各 0.5 μL(10 μmol/L)，DNA50 ng。扩增程序为：94 ℃预变性 5 min；94℃变性 30 s，退火 30 s(最适退火温度见表 1)，72℃延伸 30 s，25～30 个循环；最后 72℃延伸 5 min，4℃保存。

PCR 产物用 10%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测，电泳结束后采用改良的银染方法(Zhang & Bai, 2008)进行染色、显影，扫描成像并保存结果。

表 1 微卫星引物的基本信息
Tab. 1 The basic information of the primer

引物名称 Name of primer	引物序列 Primer sequence	退火温度 Anneal temp	循环数 Repeat cycle	GenBank 登陆号 Accession No.	参考文献 Reference
Omy16DIAS	F: CACGAGGAGTGTTCTCAATG R: AGTACTCTAACCACTAGGCTAC	54	25	AF239033	(Holm et al, 2001)
Omy108INRA	F: TGTGAAAGACAATGCCATTC R: CCTCCAAATCACTAAGTCCA	54	26		(Holm & Brusgaard, 1999)
Omi24TUF	F: CACTTTGTAACACCACATGTG R: CTGACCAGGAGCAGCTCTG	60.5	25		(Hara et al, 2003)
Omi75TUF	F: GCATGATACTGACACAAGGGG R: GATCTTGTTAACCTCTCCGGG	58	26		(Hara et al, 2003)
Omi120TUF	F: AGACGGCTTTAACAACCCCT R: TGTCTGCATATGTCAGCTTGC	55	26		(Hara et al, 2003)
Omi134TUF	F: ATACCACATTAATGCATTCCCC R: GAGCAGGACGGAGAGAGATG	58	25	AB105851	(Hara et al, 2003)
Omi165TUF	F: TTCCATCTGCTGAGACATGC R: GTGCTTCTTCAGGAACAGCC	55	26		(Hara et al, 2003)

1.3　家系鉴定分析

用 Gelpro(version 4.5)软件对电泳图谱进行基因分型，并进行人工校正，将基因型转换为 0、1 矩阵，采用自编的数据格式转换软件将其转化为 Popgene 和 Genepop 格式。基因型数据用 Popgene 进行家系的遗传多样性分析，用 Genepop 进行哈迪-温伯格平衡检验(HW)、基因型连锁不平衡检验(LD)。

1.3.1　模拟分析　根据本实验 7 对引物在群体中的等位基因频率，应用 CERVUS3.0 软件采用排除法、片段概率分析法进行家系亲缘关系的重建模拟，通过模拟分析估计家系鉴定能力与有效微卫星座位数目的关系。

1.3.2　分养家系　使用 CERVUS3.0 软件对个体进行亲权分析(父权指数分析、母权指数分析、及亲本对分析)，通过计算候选父母的 LOD 最大值选出其真实父母。比较鉴定结果与实际结果，计算鉴定准确率，估算微卫星基因座位应用于家系分析的准确性和可靠性。

1.3.3　混养家系　使用 CERVUS3.0 软件对每一个体的基因型进行亲权分析，计算出各微卫星座位的等位基因频率、杂合度、期望杂合度、多态信息含量、平均排除概率、Hardy-Weinberg 平衡及无效等位基因频率，根据 LOD 值对每一个体的父母作出鉴定。

2　结果与分析

2.1　微卫星座位模拟分析

实验所用 7 对微卫星引物均能扩增出目的条带，电泳结果如图 1。

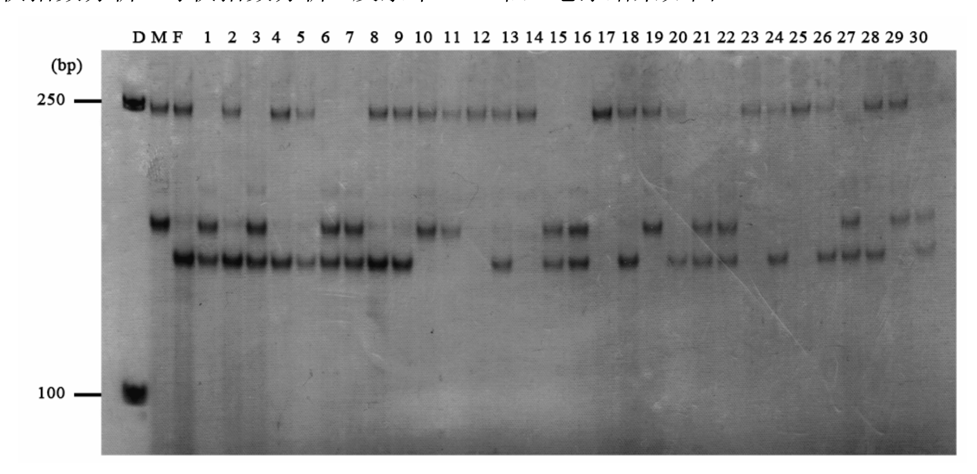


图 1　Omi24TUF 引物在 28#单独养殖家系的扩增图谱

Fig. 1　Demonstration of primer Omi24TUF in single families of 28#

D: DL2 000 相对分子质量标准; M: 母本; F: 父本; 1~30: 家系个体。

D: DL2000 DNA marker; M: mother; F: father; 1-30: individuals of the family 28#.

实验所用 7 个有效微卫星位点，在个体父母双方基因型都未知的情况下，排除概率在 26.6%～66.3%之间，7 个位点的综合排除概率为 98.4%。模拟分析表明，在哲罗鱼中要达到 95%以上的排除率，至少需要 6 个有效的多态性微卫星引物(图 2)。

2.2　分养家系的鉴定

对 3 个家系的 90 尾的分养子代个体(材料 A)及 9 对候选亲本(材料 C)进行了基因分型，7 个有效微卫星座位扩增的等位基因数目在 2～4 之间。用 3～9 对候选亲本对子代个体进行家系鉴定，鉴定结果与养殖记录比对显示，90 尾子代中在 9 对候选亲本的情况下，有 18 尾无法找到正确的父母。随候选亲本增加，累积鉴定准确率由 93.3%递减至 80%，单一父本的鉴定准确率始终高于单一母本的鉴定准确率(图 3)。

2.3　混养家系的鉴定

分别用 3～9 对候选亲本对 90 尾混养子代个体进行家系鉴定，分析结果见表 2。为保证鉴定结果准确，根据 LOD 值鉴定候选父母时，只有所有微卫星座位全部匹配，并符合亲本交配体制的才确认亲子关系。在 9 种可能父母对情况下，确认了 83 尾混养后裔的父母，而在 81 种可能父母对的情况下，鉴定值降低至 71 尾，3～9 对候选亲本对子代的鉴定率依次为 92.2%、91.7%、86.7%、83.3%、81.7%、80%、78.9%。可见候选亲本、可能父母对种类越多，鉴定率越低。

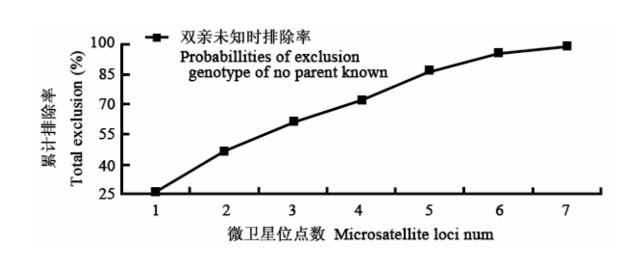


图 2 7 个微卫星座位的累计排除率

Fig. 2 Combined probabilities of exclusion calculated over the seven microsatellite loci

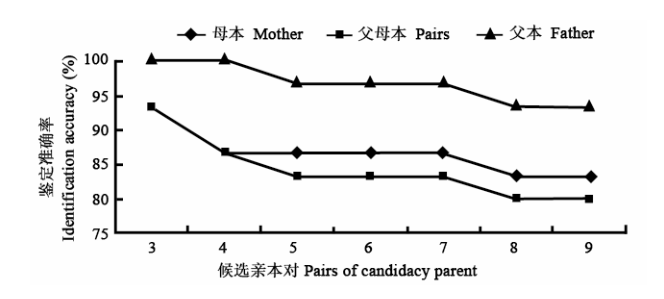


图 3 不同候选亲本对母本、父本、父母本的累积鉴定准确率

Fig. 3 Cumulative assignment success of progeny to correct dam,sire and parent-pair based on different candidacy parent

表 2 7 个微卫星座位在混养家系检测值

Tab. 2 Detective values of the seven microsatellite loci

Loci	k	n	Hets	Homs	H(O)	H(E)	PIC	Excl	HW	NF
Omy16DIAS	2	77	39	38	0.506	0.454	0.350	0.266	NS	−0.0475
Omy108INRA	2	76	40	36	0.526	0.503	0.375	0.281	NS	−0.0260
Omi24TUF	4	78	63	15	0.795	0.732	0.677	0.650	NS	−0.0451
Omi75TUF	3	78	58	20	0.744	0.665	0.587	0.514	NS	−0.0469
Omi120TUF	2	78	34	44	0.436	0.482	0.364	0.275	NS	+0.0471
Omi134TUF	4	77	55	22	0.701	0.743	0.689	0.663	NS	+0.0266
Omi165TUF	2	77	33	44	0.429	0.454	0.350	0.266	NS	+0.0260

k：等位基因数目；n：检测个体数目；Hets：杂合子；Homs：纯合子；H(O)：观察杂合度；H(E)：期望杂合度；PIC：多态信息含量；Excl 双亲未知时排除率；HW：哈迪温伯格平衡检验；NF：无效等位基因频率；NS：符合。

k：Number of alleles; n：number of individuals; Hets：number of heterozygotes; Homs：number of homozygotes; H(O)：observed heterozygosities; H(E)：expected heterozygosities; PIC：polymorphic information content; Excl：probabilities of exclusion based either on the genotype of no parent known; HW：test of Hardy-Weinberg expectations; NF：null frequency; NS：conformanc.

3 讨 论

3.1 哲罗鱼的家系鉴定

选育过程中为保持正确的系谱信息必须选择合适的标记。传统采用的颜色、电子标记等外部物理标记有明显不足之处(Dena et al, 2004)，而微卫星分子标记因其数量多、分布广、多态性丰富等诸多优点，近年广泛应用于连锁图谱构建、个体鉴定、亲子鉴定、遗传多样性分析、疾病诊断、基因定位等诸多领域。以往研究证实，微卫星分子标记可以有效地应用于系谱的构建。Perez et al (1999)用 4 至 5 个等位基因数均大于 20 的高多态微卫星标记在 7 800 个可能的父母对中为 73%的真鲷(*Pagrus major*)后裔找到亲本。94.3%的大西洋鲑(*Salmo salar*)可以用 4 个微卫星标记(等位基因在 10～17)从 110 对潜在父母中正确地鉴定其亲本(Ashie et al, 2000)。在日本对虾(Penaeusjaponicus)中，Wolfus et al (1997)利用微卫星 M1 引物 47 条等位基因对高健康虾品系中的 6 个地理种群共 16 个家系 312 尾对虾进行了分析，阐明了每一家系的亲代与其后代之间的遗传关系； Takuma et al (2002)用日本对虾 5 个微卫星位点确定了 7 个家系的亲缘关系；Jerry et al (2004)在 6 个微卫星位点(等位基因 5~18)，对由 30 个母本和 150 个假定父本组成的 1 个日本对虾捕获野生群体进行分析，将子代成功地分配给其“真实”母本的概率只有 47%，认为无效等位基因和由于低质量的 DNA 造成的等位基因缺失是产生这种情况的原因。由此可见微卫星亲子鉴定可成功应用于不同物种，而鉴定的准确率则很大程度上受所选微卫星分子标记的影响，即对数目相同的标记而言多态性越丰富鉴定准确率越高，如果找到多态性非常好的标记就能实现利用少量微卫星分子标记准确进行家系鉴定的目的。

本研究中，通过 7 个有效的微卫星标记分别从

3 至 9 对候选亲本中鉴别子代父母，最终得知随候选亲本群体增大，鉴定率逐次降低，当候选亲本取最大值即 81 种可能父母对时，得到最小值(分养家系鉴定准确率 80%，混养家系鉴定率 78.9%)。与 Jerry et al (2004)的实验结果相比, 作者的研究鉴定率较高，一方面由于实验中的 90 个个体仅来自 3 个家系, 候选亲本群体相对较小；另一方面所选用微卫星分子标记的不同也是造成这两个结果差距较大的原因之一。在生产实践中当个体识别率>0.8 时，就表明所研究的遗传标记具有较高的应用价值(Chen et al, 2002)，本研究中数据显示在可能候选亲本对数小于 81 种情况下，7 个有效的微卫星标记的个体识别率具有应用价值，可以利用它们进行哲罗鱼的亲缘关系鉴定。本研究所得出的结果对于将微卫星标记应用于哲罗鱼遗传选育、生产实践提供了理论依据。

3.2 哲罗鱼家系鉴定的影响因素

微卫星分子标记用于哲罗鱼家系鉴定，影响其鉴定准确性的原因分析如下：1)微卫星分子标记亲子鉴定的准确率很大程度上受所选分子标记的制约，通过增加标记或选用多态性更丰富的标记，将大幅提升鉴定准确率(Han et al, 2004)。本实验发现为达到 95%以上的排除率至少需要 6 个有效的微卫星标记，通过筛选合理的有效微卫星标记可以实现运用较少的微卫星标记鉴定混养群体的亲缘关系。2)通过不同候选亲本规模的对比，发现鉴定准确率并不是一成不变的，其随着候选亲本规模的增大呈现递减的趋势，这可能是由于亲本间存在亲缘关系，或是微卫星标记的数量与多态性不够丰富造成的，目前 7 个有效的微卫星标记可以从 81 种可能父母对中鉴定出 78.9%的亲缘关系，已可用于哲罗鱼的人工养殖、遗传选育，但要应用于野生资源的鉴定仍需进步一步增加有效标记的含量。3)无效等位基因，通常是由于在引物 3'端配对的碱基发生替代、插入或缺失等突变导致特定等位基因无法扩增的现象，在多个物种中其存在已被证实(Jones et al, 1998; Alderson et al, 1999; Banks et al, 1999)。 在群体遗传分析中无效等位基因的出现会导致杂合子的缺失(Ball et al, 1998)，从而降低鉴定的准确性(Wang et al, 2006)。 因此，在实验中用于家系鉴定的微卫星引物必须进行筛选，理论上偏离 Hardy-Weinberg 平衡或无效等位基因频率高于 5%的位点不可用于家系分析(Marshall et al, 1998)。本实验所使用 7 个微卫星位点通过筛选网上已知鲑科鱼类引物所得，它们基本满足了在检测群体中呈共显性的要求。4)基因分型错误也导致后裔与亲本的错配。O'Reilly et al (1998)发现平均每个基因座位存在 2%～3%的基因分型错误而无法达到 100%的准确。如果个体在多个基因座位都出现错误的分型结果，就会产生错配现象，但如果在 1～2 个基因座位出现错误的分型结果，仍会得到正确结果(Dong et al, 2008)，通过多基因座位的综合分析可降低错配的概率。

参考文献：

Alderson GW, Gibbs HL, Sealy SG. 1999. Parentage and kinship studies in an obligate brood parasitic bide,the brown-headed cowbird (*Molothrus ater*),using microsatellite DNA markers[J]. *Hered*, **90**: 182-190.

Ashie TN, Daniel GB, Edward PC. 2000. Parentage and relatedness determination in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) using microsatellite markers[J]. *Aquaculture*, **182**: 73-83.

Ball AO, Leonard S, Chapman RW. 1998. Characterization of (GT) sub(n) microsatellites from native white shrimp (*Penaeus setiferus*)[J]. *Mol Ecol*, **7**: 1251-1253.

Banks MA, Blouin MS, Baldwin BA, Rashbrook VK, Fitzgerald HA, Blankenship SM, Hedgecock D. 1999. Isolation and inheritance of novel microsatellites in Chinook salmon (*Oncorhynchus tachawytscha*)[J]. *Hered*, **90**: 281-288.

Bowcok AM, Weber JS, Ford OR. 1994. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites[J]. *Nature*, **368**: 455-457.

Chen T, Zhang LL, Lai JH, Zheng HB, Wang ZH, Wang J, Hu SN, Li SB. 2002. Genetic polymorphisms in nine STR loci of China Dongxiang[J]. *Hereditas*, **24**(3): 247-250.[陈 腾, 张琳琳, 赖江华, 郑海波, 王占海, 汪 健, 胡松年, 李生斌. 2002. 中国东乡族 9 个 STR 基因座遗传多态性研究. 遗传, **24**(3): 247-250.]

Dena RJ, Nigel PP, Peter J. 2004. Parentage determination of Kuruma shrimp *Penaeus* (*Marsupenaeus*) *japonicus* using microsatellite markers (Bate)[J]. *Aquaculture*, **235**: 237-247.

Dong SR, Kong J, Zhang TS, Meng XH, Wang RC. 2008. The simulation analysis and application of parentage determination in Chinese shrimp using microsatellite[J]. *Acta Hydrobiol Sin*, **32**(1): 96-100.[董世瑞, 孔 杰, 张天时, 孟宪红, 王如才. 2008. 中国对虾微卫星家系鉴定的模拟分析与应用. 水生生物学报, **32**(1): 96-100.]

Evett IW, Weir BS. 1998. Interpreting DNA Evidence[M]. Massachusetts:Sinauer Associates Inc, 163-187.

Fung WK, Wong DM, Tsui P. 1996. Determination of both parents using DNA profiling[J]. *Jurimetr J*, **36**(1): 337-342.

Gao H, Kong J, Yu F, Wang WJ, Luo K, Meng XH, Liu P, Zhang TS. 2007. The Chinese shrimp paternal recognition in conditions of artificially control and natural JiaoWei using microsatellite[J]. *Mar Fisher Res*, **28**(1): 1-5.[高 焕, 孔 杰, 于 飞, 王伟继, 罗 坤, 孟宪红, 刘萍, 张天时. 2007. 人工控制自然交尾条件下中国对虾父本的微卫

星识别. 海洋水产研究, **28**(1): 1-5.]

Han CM, Zhang JB, Gao QH. 2004. The application of DNA polymorphisms in animal parentage determination[J]. *Plant-eating Livestock*, **1**: 11-13.[韩春梅, 张嘉保, 高庆华. 2004. DNA 多态在动物亲子鉴定中的应用. 草食家畜, **1**: 11-13.]

Hara T, Takasi N, Kuwada T. 2003. Thirty highly polymorphic dinucleotide microsatellite in the amago salmon (*Oncorhynchus masou ishikawae*)[J]. *Aquaculture*, **272**: 266-267.

Holm LE, Brusgaard K. 1999. Two polymorphic dinucleotide repeats in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Anim Genet*, **30**: 162-163.

Holm LE, Loeschcke V, Bendixen C. 2001. Elucidation of the molecular BASIS of a null allele in a rainbow trout microsatellite[J]. *Mar Biotechn*, **6**: 555-560.

Jerry DR, Preston NP, Crocos PJ, Keys S, Meadows JRS, Li YT. 2004. Parentage determination of Kuruma shrimp *Penaeus* (*Marsupenaeus*) *japonicus* using microsatellite markers[J]. *Aquaculture*, **235**: 237-247.

Jones AG, Stockwell CA, Walker D, Avise JC. 1998. The molecular basis of a mirosatellite null allele from the white sands pupfish[J]. *Hered*, **89**: 339-342.

Marshall TC, Slate J, Kruuk LEB, Pemberton JM. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations[J]. *Mol Ecol*, **7**: 639-655.

O'Reilly PT, Herbinger C, Wright JM. 1998. Analysis of parentage determination in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using microsatellites[J]. *Anim Genet*, **29**: 363-370.

Perez ER, Takagi M, Taniguchi N. 1999. Genetic variability and pedigree tracing of a hatchery-reared stock of red sea bream (*Pagrus major*) used for stock enhancement , based on microsatellite DNA markers[J]. *Aquaculture*, **173**: 413-423.

Stephen SM, Vicki W, Gerard PD. 1999. The development and application of genetic markers for the Kuruma prawn *Penaeus japonicus*[J]. *Aquaculture*, **173**: 19-32.

Sun ZN, Liu P, Li J, He YY, Zhang XM. 2007. The parentage determination using microsatellite DNA markers for the Chinese shrimp[J]. *Mar Fisher Res*, **28**(3): 8-14.[孙昭宁, 刘　萍, 李　健, 何玉英, 张秀梅. 2007. 微卫星 DNA 标记用于中国对虾亲子关系的鉴定. 海洋水产研究, **28**(3): 8-14.]

Takuma S, Minoru I, Hideshi M, Nobuhiko T. 2002. Inheritance mode of microsatellite DNA markers and their use for kinship estimation in kuruma prawn Penaeus japonicus[J]. *Fisher Sci*, **68**: 299-305.

Wang S, Le PQ, Chen YY. 1998. The Red Book of China Endangered Animals(Fish)[M].2nd ed.. Beijing:Scientific Press, 29-31.[汪　松, 乐佩琦, 陈宜瑜. 1998. 中国濒危动物红皮书(鱼类).[M]. 2 版. 北京:科学出版社, 29-31.]

Wang HX, Wu CG, Zhang LS, Xiang JH. 2006. The application of microsatellite markers for parentage determination in selective breeding of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. *Hereditas*, **28**: 179-183.[王鸿霞, 吴长功, 张留所, 相建海. 2006. 微卫星标记应用于凡纳滨对虾家系鉴别的研究. 遗传, **28**: 179-183.]

Weber JL, May PE. 1989. Abundant class of human DNA polymorphism which can be typed using the polymerase chain reaction[J]. *Am J Hum Genet*, **44**: 388-396.

Wolfus GM, Garcia DK, Alcivar WA. 1997. Application of the microsatellite technique for nanlyzing genetic diversity in shrimp breeding programs[J]. *Aquaculture*, **152**: 35-47.

Xia JH, Zheng JS, Wang D. 2005. Using microsatellite fingerprin technique to distinguish the *Neophocaena phocaenoides asiaeorientalis* individual in the Swan Sandbar Natural Reserve[J]. *Acta Zool Sin*, **51**(1): 142-148.[夏军红, 郑劲松, 王　丁. 2005. 用微卫星指纹识别天鹅洲保护区长江江豚个体. 动物学报, **51**(1): 142-148.]

Zhang YG, Li DQ, Rao LQ, Xiao QM, Liu D. 2003a. The application for the east-northern tiger parentage determination using microsatellite DNA genetic markers which have been selected[J]. *Acta Zool Sin*, **49**(1): 118-123.[张于光, 李迪强, 饶力群, 肖启明, 刘　丹. 2003a. 东北虎微卫星 DNA 遗传标记的筛选及在亲子鉴定中的应用. 动物学报, **49**(1): 118-123.]

Zhang YS, Bai XF. 2008. A simple quick and high resolution method to show the strip on the PAGE gelatin[J]. *Hereditas*, **30**(2): 251-254.[张玉山, 白旭峰. 2008. 一种简单快速高分辨率的 PAGE 胶显带方法. 遗传, **30**(2): 251-254.]

Zhang ZH, Shen FJ, Sun S, Victor AD, Zhang AJ, Stephen JB. 2003b. The father parentage determination for pandas using microsatellite type identification method[J]. *Hereditas*, **25**(5): 504-510.[张志和, 沈富军, 孙　姗, Victor AD, 张安居, Stephen JB. 2003b. 应用微卫星分型方法进行大熊猫父亲鉴定. 遗传, **25**(5): 504-510.]